

УДК 576.895.772 : 591.43

УЛЬТРАСТРУКТУРА СРЕДНЕЙ КИШКИ МУХ-КРОВОСОСОК
LIPOPTENA CERVI И HIPPOBOSCA LONGIPENNIS
(HIPPOBOSCIDAE)

Г. В. Фарафонова, С. Ю. Чайка

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

Ультратонкое строение кишечника *L. cervi* и *H. longipennis* не имеют существенных различий. Хорошо выражена полярность эпителиальных клеток, апикальные отделы которых представлены микроворсинками, а базальные преобразованы в систему инвагинаций плазматической мембранны. Эти клетки имеют одно или два ядра и меняют свою форму в зависимости от физиологического состояния мухи. У голодных особей они цилиндрические, а у напитавшихся — булавовидные. Для булавовидных клеток характерны липидные включения в виде многочисленных гранул. Выделение пищеварительных ферментов происходит по мерокриновому, макро- и микроапокриновому типам. Перитрофическая мембрана не обнаружена.

Среди высших мух кровососки — одно из немногих семейств, все представители которого являются облигатными гематофагами. Их жизненные схемы очень разнообразны. Даже в пределах небольшой по числу видов группы кровососок, связанных с млекопитающими, встречаются многоотрывные, одноотрывные и безотрывные паразиты. Морфологические адаптации, свойственные каждой из этих групп: приспособление к сбрасыванию крыльев — у *Lipoptena*, бескрылость — у *Melophagus* и других, хорошо известны (Беклемишев, 1970). Менее ясны, в силу слабой изученности, тонкие приспособления внутренней организации кровососок к определенному типу паразитизма.

Предпринятое нами гистологическое и электронно-микроскопическое исследование средней кишки двух видов кровососок — первое в планируемой серии работ по изучению морфологии и физиологии кровососок в сравнительно-паразитологическом аспекте.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В качестве объектов исследования были использованы ни разу не принимавшие крови и длительно питавшиеся самки двух видов: *L. cervi* — одноотрывный паразит разных видов оленей и *H. longipennis* — многоотрывный паразит собак. Непитавшихся особей *L. cervi* собирали в Подмосковье в конце лета и ранней осенью. Приступившие к питанию мухи были сняты с лося (*Alces alces* L.) зимой. Мухи *H. longipennis* были отловлены на собаках в Туркмении. Из пупариев, отложенных этими мухами в лабораторных условиях, выведены особи, которых исследовали до начала питания.

Для световой микроскопии материал фиксировали в водном растворе Буэна. Заливку в парафин и приготовление срезов проводили по общепринятой методике. Срезы окрашивали по методу Маллори. Для электронной микроскопии кусочки средней кишки фиксировали 2,5%-ным раствором глютарового альдегида на фосфатном буфере и постфиксировали в 2%-ном растворе четырехокиси осмия. Материал контрастировали уранилацетатом и заливали в смесь смол эпон. Ультратонкие срезы изучали в электронных микроскопах «Hitachi 11B» и «JEM-100B».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Средняя кишка кровососок представляет собой довольно широкую трубку с периодически повторяющимися расширениями. Ее длина у *L. cervi* равна 6.0 мм, а у *H. longipennis* — 14.5 мм. Для сравнения была измерена также длина средней кишки *Melophagus ovinus* L., средние размеры которой оказались равными 6.2 мм.

Гистологическими методами изучен клеточный состав средней кишки, выявлены две основные формы клеточного эпителия (цилиндрические и булаво-видные) с одним или двумя ядрами и регенерационные клетки с мелкими ядрами.

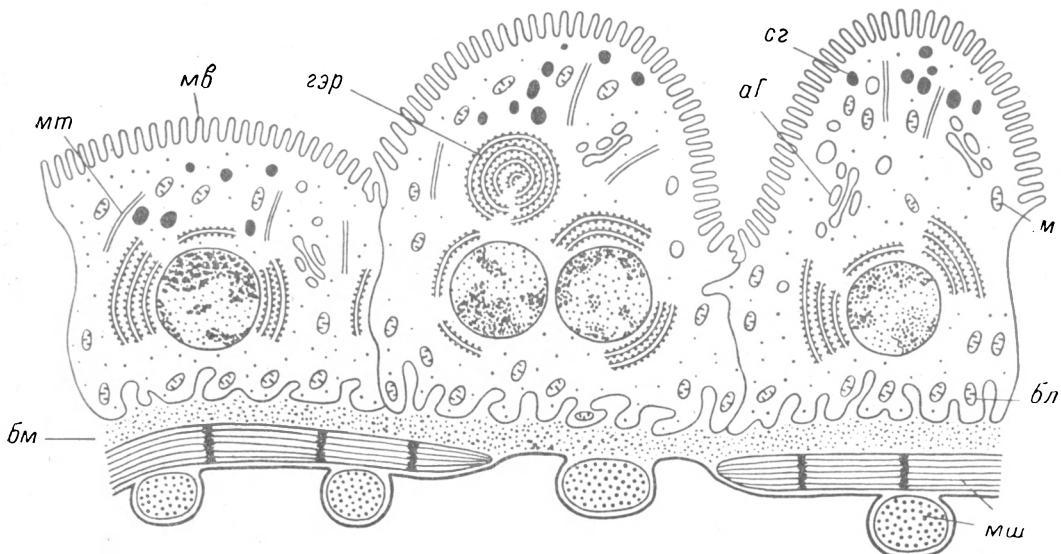


Рис. 1. Схема участка средней кишки голодной *L. cervi*.

аг — аппарат Гольджи; *бл* — базальный лабиринт; *бм* — базальная мембрана; *сг* — гранулярный эндоплазматический ретикулум; *м* — митохондрии; *мв* — микроворсинки; *мт* — микротрубочки; *мш* — мышцы.

У голодных особей *L. cervi* эпителий средней кишки представлен слоем цилиндрических клеток, высота которых варьирует от 7 до 18 мкм (рис. 1). Все клетки эпителия характеризуются полярным строением: их апикальный отдел представлен микроворсинками, покрытыми тонким слоем нитчатого гликокаликса (рис. 3, 2, 3; см. вкл.), а основание преобразовано в систему инвагинаций плазматической мембранны, формирующей базальный лабиринт (рис. 1). Микроворсинки имеют длину 1.0—1.3 мкм, их расположение на поверхности клеток довольно компактное — свыше 50 на площади 1 мкм². Внутри микроворсинок проходят филаменты и микротрубочки (рис. 3, 3). Степень развития базального лабиринта может быть различной. В одних клетках инвагинации плазматической мембранны занимают всю базальную часть, а в других — эти образования весьма незначительны (рис. 3, 3).

Клетки имеют одно или два ядра, слегка вытянутой или овальной формы, диаметром 4—5 мкм. Цитоплазма содержит значительное количество секреторных включений диаметром 0.1—0.5 мкм (рис. 3, 6). Как правило, секреторные гранулы размещены в надядерной зоне клетки. Здесь же сосредоточены митохондрии, мембранны гранулярного эндоплазматического ретикулума, рибосомы, цистерны аппарата Гольджи (рис. 3, 1, 5). Всю цитоплазму пронизывают микротрубочки.

Крупные секреторные гранулы липидов, хорошо развитая система базального лабиринта, секреторные включения (рис. 3, 5, 6), нередко встречающиеся в клетках средней кишки голодных особей, являются свидетельством активного пищеварительного процесса, происходящего до принятия первой

порции крови. Это явление связано, по-видимому, с частичным перевариванием веществ — предшественников мекония, которые скопились в кишечнике за время личиночного развития.

При заполнении средней кишки только что поглощенной кровью клетки эпителия уплощаются, одновременно увеличиваясь в размере. По мере переваривания пищи клетки приобретают булавовидную форму (рис. 2). При этом их размеры продолжают увеличиваться, пока высота клеток не станет предельной (75 мкм), а диаметр ядер не достигнет 13—20 мкм.

Апикальные булавовидные расширения лишены микроворсинок, их цитоплазма мелко гранулирована и почти не содержит отчетливо видимых клеточ-

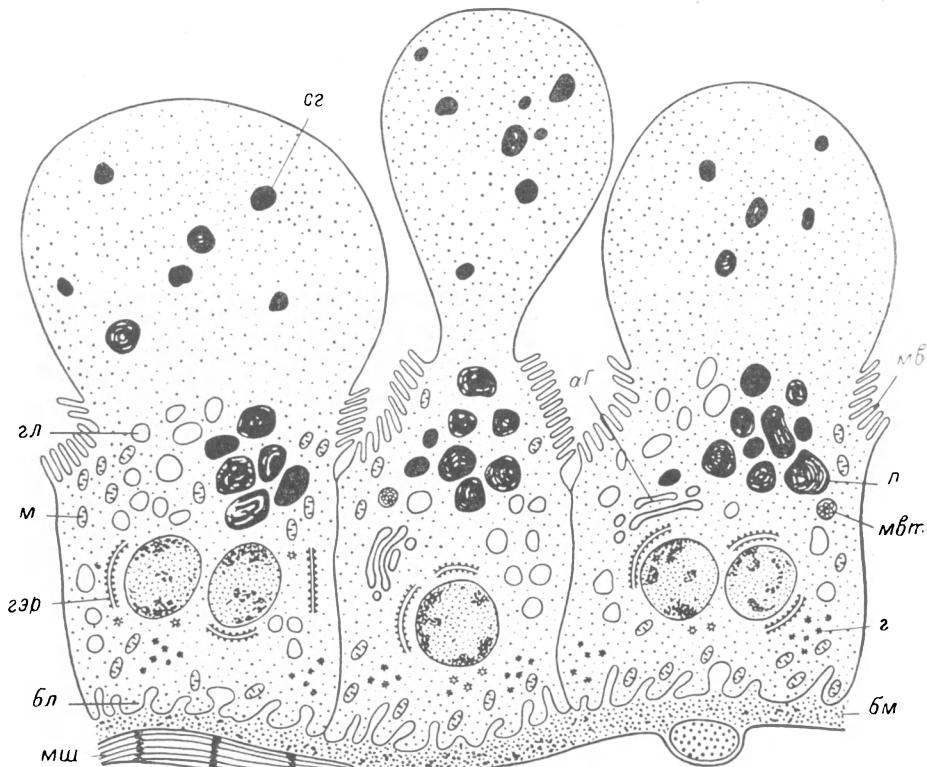


Рис. 2. Схема участка средней кишки напитавшейся *L. cervi*.

г — гликоген, гл — гранулы липидов; л — лизосомы, мвт — мультивезикулярное тело.
Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

ных органелл (рис. 2; 4, 2; см. вкл.). Из числа цитоплазматических включений заметны секреторные и липидные гранулы (рис. 4, 1). Такие черты строения характерны для клеток, продуцирующих путем макроапокриновой секреции пищеварительные ферменты или всасывающие продукты гидролиза.

Свободная от булавовидного расширения апикальная поверхность клетки покрыта микроворсинками, длина которых у напитавшихся мух достигает 1.5 мкм (рис. 4, 2). В основной части клетки рассеяны округлые липидные гранулы диаметром около 0.5 мкм, митохондрии, рибосомы, мембранный эндоплазматический ретикулум, вакуоли; в ее апикальной области сосредоточено большое количество бесформенных электронноплотных лизосом. В базальной части клетки локализованы многочисленные звездчатые гранулы гликогена.

У непитавшихся мух *H. longipennis* клетки эпителия средней кишки образуют довольно ровный слой высотой 15—18 мкм. Многие клетки имеют два ядра диаметром от 4 до 5 мкм. И в одноядерных, и в двухъядерных клетках ядра располагаются ближе к апикальному концу с микроворсинками, средняя длина которых составляет около 1 мкм. Вся надъядерная область клетки занята равномерно распределенными митохондриями, мембранами гранулярной эндоплазматической сети, рибосомами, небольшими пузырьками и вакуолями. В разных

направлениях цитоплазму пронизывают микротрубочки. Весьма характерным признаком клеток средней кишки голодных особей является наличие многочисленных электронноплотных секреторных включений разнообразной величины и формы. В среднем диаметр секреторных капель равен 0.25 мкм; они образуют крупные скопления под микроворсинками клеток (рис. 4, 3). Вакуолярная система базального лабиринта в некоторых клетках занимает практически всю подъдерную область. Базальный лабиринт подстилает гомогенная базальная мембрана толщиной около 0.15 мкм.

Форма, величина и электронная плотность цитоплазмы эпителиальных клеток у приступивших к питанию собачьих кровососов зависит от физиологического состояния кишечника. Уплощенные клетки средней кишки, содержащей порцию непереваренной крови, на последующих этапах пищеварения сильно вытягиваются в полость кишки (рис. 4, 4, 5), приобретая булавовидную форму. Высота этих клеток возрастает до 45—65 мкм. Почти вдвое увеличиваются и размеры ядер (до 7—9 мкм). Микроворсинки отсутствуют на булавовидных расширениях (рис. 4, 4, 5), сохраняясь только при их основании. Длина микроворсинок у напитавшихся особей увеличивается до 2.0—2.3 мкм. Апикальные отделы булавовидных клеток нередко отторгаются от основания клетки и перемещаются в полость средней кишки (рис. 4, 5). Одновременно с макроапокриновой секрецией происходит и микроапокриновая, с отрывом расширенных частей микроворсинок. У мух, завершивших процесс интенсивного переваривания крови, резко увеличивается количество лизосом в клетках. Лизосомы размером от 0.3 до 2.0 мкм наиболее обильны в апикальной части клетки, но в единичных экземплярах встречаются и ближе к ее основанию, иногда даже в области базального лабиринта (рис. 4, 6). Кроме лизосом, в цитоплазме содержится много липидных гранул и зерен гликогена. Липидные гранулы сосредоточены преимущественно в апикальном и центральном отделах клетки, а зерна гликогена — в базальном.

В клетках средней кишки обоих видов обнаружено большое количество симбиотических бактерий. Перитрофическая мембрана не найдена ни у голодных, ни у напитавшихся особей.

ОБСУЖДЕНИЕ

Пищеварительная система кровососов в пределах семейства достаточно однотипна (Massonat, 1909; Tarshis, 1955, и др.), за исключением распределения внутриклеточных симбионтов в клетках средней кишки и ее размеров. У представителей рода *Hippobosca* симбионты встречаются по всей длине средней кишки кроме узких зон, в области ее переднего и заднего концов, а у мух из родов *Lipoptena* и *Melophagus* они сосредоточены в клетках последней петли кишки, ближе к месту впадения малышиевых сосудов (Zacharias, 1928; Ascher, 1931). Размеры средней кишки, значительно более длинной у *Hippobosca*, нежели у *L. cervi* и *M. ovinus*, возможно, имеют прямую связь с типом паразитизма. Длинный кишечник позволяет потреблять и запасать большее количество крови, что несколько снижает опасность гибели от голода, прежде чем состоится повторная встреча с хозяином.

Изучение гистологии и ультраструктуры средней кишки выявило наличие большого количества митохондрий и рибосом в клетках, а также довольно распространенное явление двухъядерности, что свидетельствует об интенсивности процессов, протекающих в этом отделе пищеварительного тракта. Изменения, происходящие в клетках в процессе питания, тип секреции, характер ультратонкого строения клеток эпителия у обоих видов кровососов имеют много общего. Не исключено, что могут существовать определенные различия на уровне биохимических процессов, в частности, в скорости утилизации поглощенной крови.

Клеточный состав эпителия средней кишки, динамика клеточной активности, способы выделения ферментов у кровососов сходны с таковыми у других высших двукрылых. Например, у осенней жигалки *Stomoxys calcitrans* L. обнаружены такие же булавовидные клетки и аналогичный макроапокриновый тип секреции.

В то же время у кровососок в строении пищеварительного тракта имеются некоторые особенности, не свойственные другим кровососущим двукрылым. У них менее интенсивно, чем у низших двукрылых, развит слой гликокалинса (Чайка, 1977) и отсутствует перитрофическая мембрана, обычно хорошо развитая у большинства Cyclorrhapha (Жужиков, 1963).

Весьма заманчиво связать отсутствие перитрофической оболочки у мух-кровососок с облигатностью кровососания. Тенденция к упрощению ее строения наблюдается у кровососов из других семейств (Muscidae, Glossinidae). Так, у *S. calcitrans* слабо развит наружный слой мембранны (Жужиков, 1963), а у *Glossina* sp. перитрофическая оболочка состоит только из одного слоя (Wigglesworth, 1929). Однако не исключено, что отсутствие перитрофической оболочки у кровососов связано не с облигатной гематофагией, а с теми особенностями их пищеварения, которые возникли под влиянием становления хозяино-паразитарных отношений.

Л и т е р а т у р а

- Беклемишев В. Н. Паразитизм членистоногих на наземных позвоночных. II. Основные направления его развития. — В кн.: Беклемишев В. Н. Биоценологические основы сравнительной паразитологии. М., Наука, 1970, с. 289—312.
Жужиков Д. П. Строение перитрофической оболочки двукрылых. — Вестн. Моск. ун-та. Сер. биол., почвовед., 1963, № 1, с. 24—35.
Чайка С. Ю. Ультраструктура гликокалинса микроворсинок кишечника кровососущих членистоногих. — Цитология, 1977, т. 19, вып. 11, с. 1221—1224.
Ascheger M. Die Bacterienflora der Pupiparen (Diptera). Eine Symbiosestudie an blutsaugenden Insekten. — Zeitschr. Morph. Oekol. Tiere 1931, Bd. 20, pts. 2—3, S. 368—442.
Massonat E. Contribution à l'étude des Pupipares. — Ann. Univ. Lyon, 1909, (N. s.), vol. 128. 388 p.
Tarschis J. B. Transmission of Haemoproteus lophortyx O'Roke of the California Quail by Hippoboscid flies of the species *Stilbometopa impressa* (Bigot) and *Lynchia hirsuta* Ferris. — Exptl Parasitol., 1955, vol. 4, p. 464—492.
Wigglesworth V. B. Digestion in the tsetse-fly: a study of structure and function. — Parasitology, 1929, vol. 21, p. 288—321.
Zacharias H. Untersuchungen über die intracellulare Symbiose bei den Pupiparen. — Zeitschr. Morph. Oekol. Tiere, 1928, Bd 10, S. 676—737.

ULTRASTRUCTURE OF THE MID GUT OF LIOPTENA CERVI AND HIPPOBOSCA LONGIPENNIS (HIPPOBOSCIDAE)

G. V. Farafonova, S. Ju. Chaika

S U M M A R Y

Ultrafine structure of the intestine of *L. cervi* and *H. longipennis*, despite different types of parasitism of these species, has no essential differences. The polarity of epithelial cells, the apical parts of which are represented by microvilli and basal ones are transformed into system of invaginations of plasmatic membrane, is quite distinct. The cells have one or two nuclei and change their shape depending on the physiological state of the fly. In hungry individuals they are cylinder-shaped and in engorged ones — clavate. The clavate cells are characterized by lipid inclusions in the form of numerous granules. The excretion of digestive ferment proceeds in the same way as merocrine, macro- and microapocrine ones. Peritrophic membrane was not found neither in hungry nor in engorged individuals.

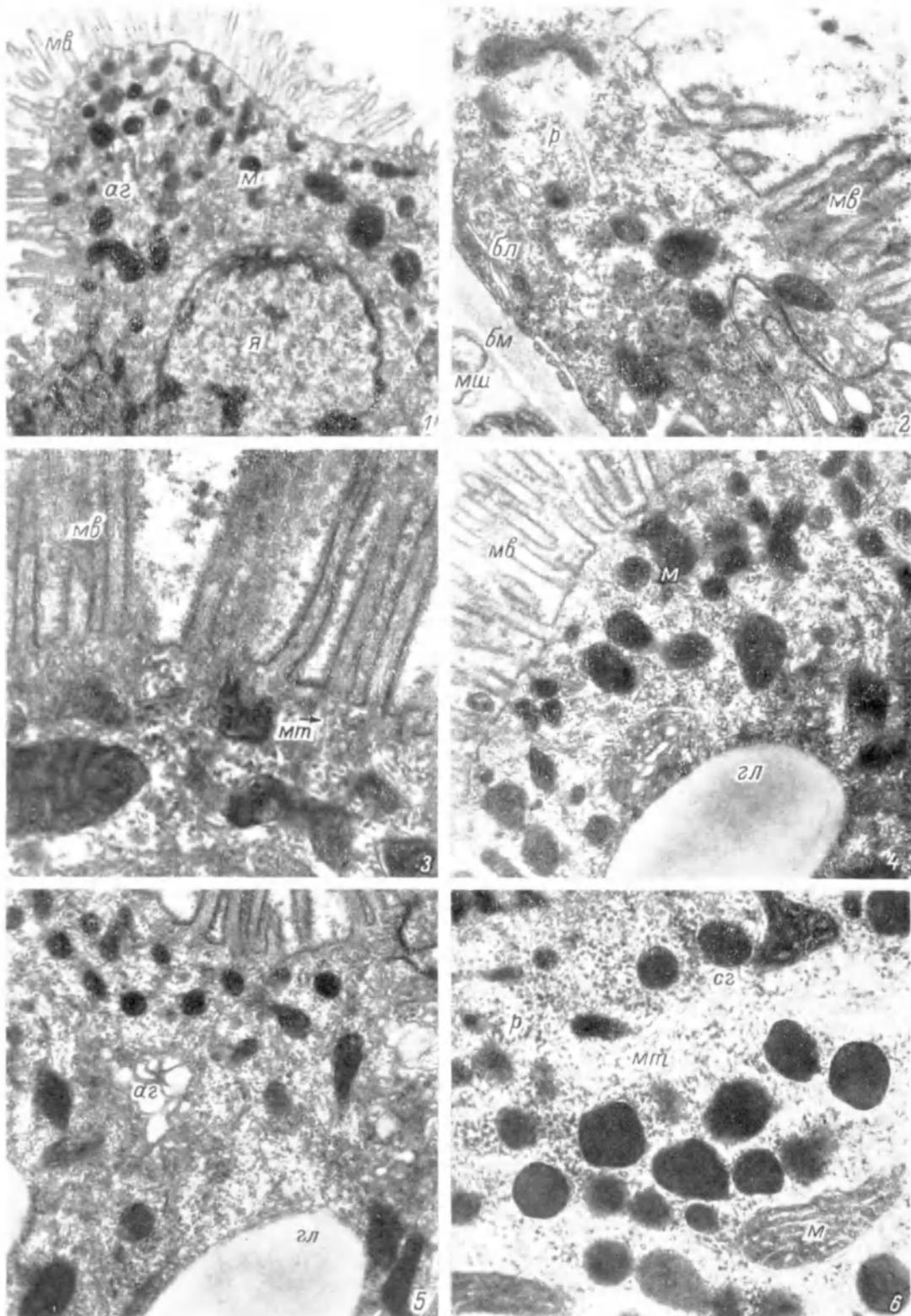


Рис. 3. Ультраструктура клеток средней кишки голодающей *L. cervi*.

1 — клетка эпителия; 2 — уплощенная клетка; 3—6 — апикальный отпел эпителиальных клеток. Увел.: 1 — 8 000 \times , 2 — 20 000 \times , 3 — 30 000 \times , 4, 5 — 15 000 \times , 6 — 30 000 \times . р — рибосомы, Я — ядро.
Остальные обозначения те же, что на рис. 1 и 2.

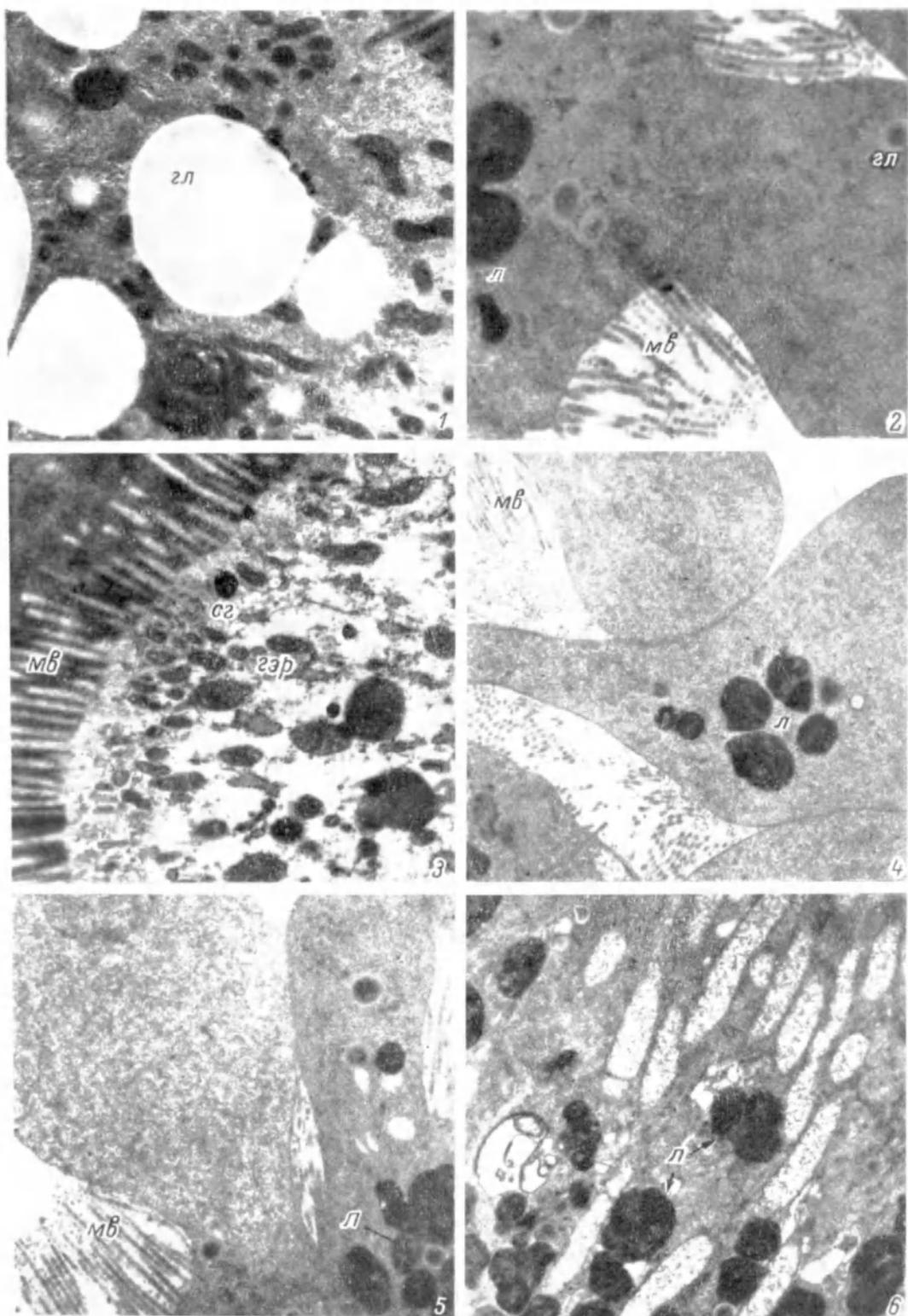


Рис. 4. Ультраструктура клеток эпителия средней кишки *L. cervi* и *H. longipennis*.

1, 2 — участок клетки средней кишки напитавшейся *L. cervi*; 3 — апикальный отдел клетки средней кишки голодной *H. longipennis*; 4—6 — участки клетки средней кишки напитавшейся *H. longipennis*. Увел.: 1—3 — 10 000 \times , 4, 5 — 8 000 \times , 6 — 10 000 \times .
Обозначения те же.